

沙市婴幼儿腹泻中检出3株C群轮状病毒

胡必勇 吴家驹 张齐良 刘玉兰

(湖北沙市卫生防疫站, 沙市 434000)

提 要

1987~1988年在沙市165份婴幼儿急性腹泻标本中,用PAGE法检出轮状病毒37株(22.4%),其中3株为少见的轮状病毒,此种病毒经电镜观察,具有典型轮状病毒的形态结构,ELISA证实该病毒不具有A群和B群轮状病毒的群特异性抗原。RNA电泳分析表明,其基因组由11个双链RNA片段组成,电泳图型特殊,呈4:3:2:2的排列模式。上述试验表明,该病毒为世界上罕见的C群轮状病毒。免疫电镜证实,该病毒能被病人恢复期血清所凝集,提示该病毒是腹泻病儿的致病因子。

关键词: C群轮状病毒 婴幼儿腹泻 RNA电泳 免疫电镜

迄今为止,人及动物腹泻物中检出C群轮状病毒报道国内外尚不多见。我们于1988年初从3份婴幼儿急性腹泻标本中,检出一种轮状病毒,具有典型轮状病毒的形态结构,其RNA基因组电泳图型与国内外报道^[1-3]的C群轮状病毒相同。现报告如下。

材 料 和 方 法

一、**标本来源** 在1987~1988年进行沙市市急性腹泻病儿病因研究中,共收集165份婴幼儿急性腹泻标本置等量缓冲甘油盐水中,-20℃保存备检。其中3份标本(沙88-11、沙88-28、沙88-29)检出C群轮状病毒,3例病儿年龄分别为 $1\frac{3}{12}$ 、 $1\frac{7}{12}$ 、 $\frac{5}{12}$ 岁,3份标本分别采于1988年1、2月份。

二、**标准毒株** A群轮状病毒1型Wa株、3型SA₁₁株、4型Odelia株,均由中国预防医学科学院病毒学研究所提供。

三、电镜观察

1. **直接电镜观察** 由湖北医学院电镜室按常规方法将粪便10,000 r/m离心10分钟,取粪上清滴膜、负染后电镜观察并照相。

2. **免疫电镜** 粪便经10,000 r/m离心10分钟,吸粪上清与等量1:2稀释的病人恢复期血清(病后4个月采血)混合,置37℃1小时,4℃过夜,滴膜、负染后电镜观察。

四、**ELISA** A群轮状病毒群抗原检测用兰州生物制品所生产的轮状病毒酶标试剂盒;B群轮状病毒群抗原检测用江西生物药品制造厂生产的成人腹泻轮状病毒酶标试剂盒,均按说明书操作。

本文于1989年8月6日收到

本研究承戴永祥、刘学义、陈茂义等同志热性支持,特表谢意。

五、RNA 电泳分析 主要参考 Herring 等^[7]介绍的PAGE 法进行。病毒经 10% SDS 裂解, 1:1 酚-氯仿混合液提取, 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳后, 硝酸银染色。电泳电流为 15mA, 电泳 4 小时。

结 果

一、检出率 165 份腹泻标本, PAGE 显示轮状病毒 RNA 电泳图型的 37 例, 检出率为 22.4%。其中 3 份标本 RNA 电泳图型特殊, 占阳性标本的 8.1%(3/37)。

二、电镜观察 取沙 88-11, 沙 88-28 两份标本上清作直接电镜检查, 均可见具有典型轮状病毒形态结构的病毒颗粒, 其大小在 70nm 左右, 内有直径 40nm 的核心, 核心周围包有规则的、呈放射状排列的亚单位组成的双层衣壳。病毒颗粒多为实心, 少数为空心(见图 1)。免疫电镜下, 该病毒能被病人恢复期血清所凝集, 并可见病毒颗粒之间由抗体桥相联(见图 2), 提示该病毒是腹泻病儿的致病因子。



图 1 沙 88-28 腹泻标本中发现的 C 群轮状病毒, 图中多数为实心颗粒, 少数为空心颗粒 ($\times 60,000$)

Fig 1. Group C rotavirus particles found in Sha 88-28 diarrhea sample, the EM figure showing both full and empty particles.

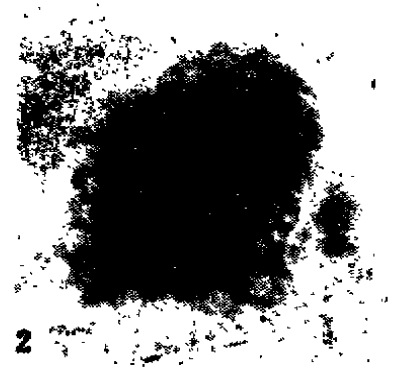


图 2 免疫电镜下所见轮状病毒颗粒 ($\times 50,000$)

Fig 2. IEM showing aggregate of group C rotavirus in fecal supernatant

三、抗原检测

1. 用测定 A 群轮状病毒群抗原的 ELISA 方法检测标本 3 份, 结果均为阴性, 而 A 群 2 个标准毒株培养液及本室 A 群轮状病毒(长型与短型)阳性粪样, 测定结果皆为阳性, 说明本文检出的 3 株病毒都不具有 A 群轮状病毒的群特异性抗原, 详见表 1。

2. 用测定 B 群轮状病毒群抗原的 ELISA 试剂检测 3 份标本, 结果亦为阴性, 阳性对照结果呈阳性, 说明检出的 3 株病毒亦不具有 B 群轮状病毒的群特异性抗原。

四、RNA 电泳分析 由沙 88-11、沙 88-28、沙 88-29 三份标本提取 RNA, 以 A 群轮状病毒 1 型 Wa 株、3 型 SA₁₁ 株、4 型 Odellia 株及本室 A 群轮状病毒阳性粪样(长型和

表 1 A群轮状病毒特异性抗原测定结果
Table 1. Test for group-specific antigen of group A rotavirus

| 标 本 | ELISA OD值 |
|----------------------------|--------------|
| 沙88-11粪样 | 0.04 |
| 沙88-28粪样 | 0.03 |
| 沙88-29粪样 | 0.04 |
| 轮状病毒 W ₁ 株培养液 | 1.57 |
| 轮状病毒 SA ₁₁ 株培养液 | 1.72 |
| 本室轮状病毒(长型)阳性粪样 | 0.77 |
| 本室轮状病毒(短型)阳性粪样 | 0.68 |
| 轮状病毒阳性粪样对照 | 2.25 |
| 轮状病毒阴性粪样对照 | 0.03 |

短型)为对照,同时电泳,结果见图3。沙88-11、沙88-28、沙88-29三株病毒在凝胶片上均显示11条带,与轮状病毒基因组有11个双链RNA片段相符。此3株病毒的RNA电泳模式相同,11个RNA片段都明显分为四个组,第一组为1—4片段,此组特点是3、4片段相靠很近,电泳时几乎难以分开。第二组很特殊,为5—7片段,这与A群轮状病毒只有两个片段截然不同,整组位置也低于A群轮状病毒。第三组为8—9片段,相靠亦很近。第四组为10—11片段,泳动位置低于A群轮状病毒。综上所述,该病毒RNA电泳图型构成4:3:2:2模式,与A群、B群、D群轮状病毒RNA电泳



图3 A群轮状病毒和C群轮状病毒不同毒株RNA电泳图型

Fig 3. Genome RNA electrophoretic pattern of group A and group C rotaviruses

- 注: A. A群轮状病毒(短型,本室毒株)
B. A群轮状病毒(长型,本室毒株)
C. 沙88-11(C群)
D. 沙88-28(C群)
E. 沙88-29(C群)
F. 1型W₁株
G. 3型SA₁₁株
H. 4型Odellia株

- Note: A. Group A rotavirus(short type, virus strain isolated by authors)
B. Group A rotavirus(long type, virus strain isolated by authors)
C. Sha 88-11(Group C)
D. Sha 88-28(Group C)
E. Sha 88-29(Group C)
F. Type 1 W₁ strain
G. Type 3 SA₁₁ strain
H. Type 4 Odellia strain

图谱均不相同。

将沙 88-11、沙 88-28 两株病毒进行共同电泳，1—11 个 RNA 片段电泳图型彼此完全重合（见图 4），说明这两例病儿所感染的为同一种轮状病毒。沙 88-29 因标本量太少，未能做共同电泳。

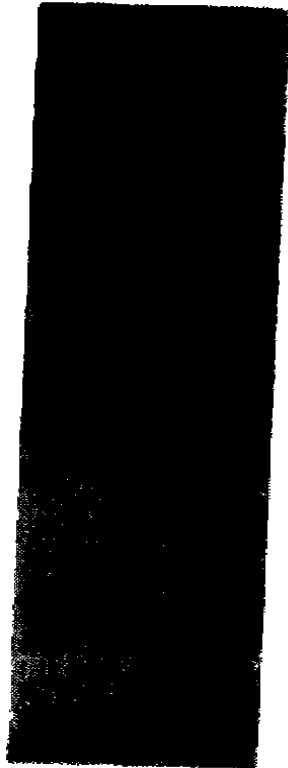


图 4 2 株 C 群轮状病毒共同电泳图型

注: A. 沙 88-11;

B. A+C

C. 沙 88-28

Fig 4. Genome RNA coelectrophoretic pattern of 2 strains of group C rotavirus

Note: A. Sha 88-11

B. A+C

C. Sha 88-28

讨 论

根据群抗原血清学交叉反应和 RNA 电泳图型的特征，轮状病毒至少可以分为 A、B、C、D 四群，A、B 两群检出率较高，国内外已有许多报道，而 C 群感染人和动物者较为罕见，国外检出尚不到 10 株，国内已报道的仅 4 株^[1,2]。本文 3 株均为 C 群轮状病毒，其依据是：(1) 电镜观察该病毒具有典型轮状病毒的形态结构；(2) 不具有 A、B 群轮状病毒的群特异性抗原；(3) 病毒基因组由 11 个双链 RNA 片段组成，RNA 电泳模式为 4:3:2:2，3、4 片段以及 8、9 片段相靠很近，形成一条较宽区带，与国内外报道^[1-4]的 C 群轮状病毒 RNA 电泳图型基本相同。

3 例患儿都是门诊病人，根据其临床症状，患者粪便作肠道致病菌分离均阴性及病人恢复期血清免疫电镜结果，作者认为本文检出的 3 株 C 群轮状病毒是引起患者腹泻的病原。值得注意的是，本文 3 株 C 群轮状病毒皆从 1、2 月份腹泻标本检出，而其它月份共检出 34 株轮状病毒，均为 A 群，这提示 C 群轮状病毒感染可能多发于寒冷季节。

世界上已知的十余株 C 群轮状病毒，虽分布在中国^[1,2]、澳大利亚^[3]、法国^[4]、保

加利亚^[6]、墨西哥^[7]等几大洲的不同国家和地区,相距遥远,但其 RNA 电泳图型基本相同,各毒株相互之间有无联系,传染源、传播途径如何,以及人 C 群与猪 C 群之间的关系均值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 吴妙灵等, 1987, 病毒学报, 3:116.
- [2] 陈广牧等, 1988, 实验和临床病毒学杂志, 3:1.
- [3] Rodger S M, et al., 1982, *J. Clin. Microbiol.*, 16:724.
- [4] Nicolas JC, et al., 1983, *Virology*, 124:181.
- [5] Dimitrov D H, et al., 1983, *Infect. Immunol.*, 41:523.
- [6] Espejo R T, et al., 1984, *Infect Immunol.*, 44:112.
- [7] Herring A J, et al., 1982, *J. Clin. Microbiol.*, 16:473.

Group C Rotavirus Detected in Infantile Diarrhea in Shashi

Hu Bi-yong Wu Jia-ju Zhang Qi-liang Liu Yu-lan

(Shashi Health and Anti-epidemic Station, Shashi 434000)

165 stool samples were collected from infants and young children with acute diarrhea in Shashi from 1987 to 1988, 37 strains of rotavirus were detected by RNA-PAGE, among them 3 strains were unusual rotavirus. The virus is morphologically identical to conventional rotavirus and lacks the group-specific antigen of group A and group B rotavirus. Genome analysis showed that the genome of the virus was composed of 11 double-stranded RNA segments, but the RNA electrophoretic pattern was 4:3:2:2. The results showed that the virus was rare group C rotavirus in the world. Aggregation of the virus particles by sera from convalescent patients was observed by immune electron microscopy.

Key Words, Group C rotavirus Infantile diarrhea RNA electrophoresis
Immune electron microscope